研究概要報告書

（　/　）

研究題目	性的ニ型音声行動を司る神経内分泌機構の解明	報告書作成者	山口文子
研究従事者	山口文子、クリスティン　ポッター		
研究目的	多くの動物のオスとメスは、同種でありながら雌雄独特の音声を用いて互いにコミュニケーションをとる。この音声の性差はオスにおける雄性ホルモンの分泌が引き金となって脳の機能が修飾されるためだとされている。ではいったい、雄性ホルモンはどのように脳の機能を制御して音声を性分化に導くのだろうか？本研究は、単純なカエルの音声をモデルとして用い、脳機能の性分化を司る神経機構を解明することを目標とする。材料は、発声神経回路の明瞭なアフリカツメガエルの求愛音声を用いる。この研究から、ホルモンによる神経系の修飾がどのようにして個体の出す音声として表現されるかという基本的なルールが引き出せるとともに、ひとをも含む脊椎動物における脳機能の性差を解明する第一歩となることが期待される。		

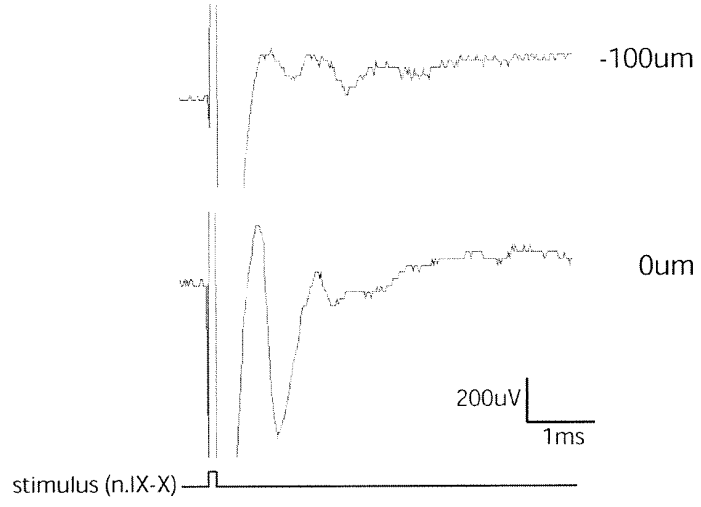
研究概要報告書

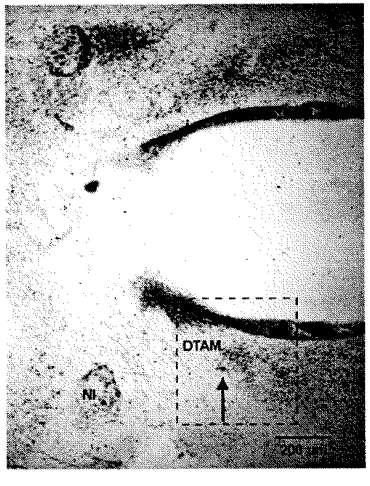
研究内容	ツメガエルの音声の基本的な構成要素は雌雄共にクリック音であるが、オスではこれが速い速度で、メスではこれが遅い速度で繰り返される。この音声の性差は性ホルモンに完全に支配されていて、おとなのメスに雄性ホルモンを投与すると、6～8週間でオス特有の音声を発するようになる。ツメガエルの発声器官である喉頭は、一対の喉頭筋の収縮に伴ってクリック音が発せられるメカニズムになっている。この喉頭筋の収縮活動は脳内の発声神経回路から出力される電気的神経活動によって直接制御されている。脳から喉頭に出力される神経活動を発声中のオスとメスから記録したところ、脳内神経回路はクリック音の繰り返し頻度と全く同じ頻度で信号を送り出していることがわかった。つまり、ツメガエルのオスとメスの音声の性差の根源は脳内神経回路がつくり出す電気的信号のリズムのちがいであり、この信号が喉頭筋の収縮頻度に変換されることによって、雌雄独特の音声が発声されるのである。脳内神経回路から送り出される神経活動のリズミックなパターンは、脳内回路のどこかにパターンジェネレーターがあることを示唆している。私は以上の研究に基づき次の仮説を持っている。(1) 運動核の1シナプス上流に位置している延髄の神経核、DTAM がツメガエルの音声のパターンジェネレーターである。そして (2) 雄性ホルモンの有無によって DTAM はオス、メス特有のリズムを出力することができる。本研究の目的は DTAM の機能的差異を同定し、次に雄性ホルモンがどのように性分化を誘導するかを同定することである。 DTAM の発声中の活動パターンを総合的に調べるためにの第一段階として、まず脳を摘出し、発声を司る神経活動を脳内刺激によって引き起こす実験系を確立する。パターンジェネレーターは一般に多数の神経細胞の相互結合によってつくりだされる機能であり、ここでは細胞外記録電極を使って細胞群の集合電位を記録する。発声に伴う DTAM の活動をオス、メス、そして雄性ホルモンを投与したメスから測定することによって、雌雄の神経回路がどのように発射頻度の異なる出力信号をつくりだし、それがどのようにホルモンによって修飾されるかを解明する。

研究概要報告書

（　/　）

研究のポイント	本研究の特徴は、音声発現の神経回路が同定済みの系を用いて、ホルモンが神経系にどのような修飾を加えて音声を性分化に導くかを直接解明するところにある。従来の音声行動の神経メカニズムの研究は、雄のみが音声を発する種（例えば鳥類や昆虫類）を材料として用いたものが主流であり、雌雄の発声機構の違いを電気生理学的に同定しようとした研究例はない。また、脊椎動物の音声発声メカニズムは一般に非常に複雑であるため、神経活動と音声との因果関係を解析することは非常に困難である。本研究では、神経回路が非常に単純で生理学的研究に適しているカエルの音声という新規でユニークなモデルを用いて、神経系、内分泌系、そして音声発声の因果関係を総合的に解析する。
研究結果	研究機関の早期にDTAMからの細胞外記録はとることには容易に成功した（図1）。その後、体外摘出した脳から発声を司る神経活動を引き起こすために様々な刺激を試みたが、このプロジェクトは非常に困難で、数カ月の努力の末断念した。その後はDTAMの1シナプス下流に位置する喉頭運動核から脳スライスを用いて細胞内記録を取る事に従事した。この実験では、雌雄の運動神経が本質的に異なっていることに着目し、雄性ホルモンを投与した雌において運動神経がどのような生理学的変化を遂げるかを解明することを目的とした。雄の運動神経は雌とは違って早い速度の連続的刺激に忠実に反応するような機能が備わっている（Yamaguchi et al., 2003)。テストステロン投与により音声が雄性化した雌（図2）の運動神経を電気生理学的に調べたところ、これらの細胞が雄化していることが解った（図3）。このことから、雄特有の早い速度のクリック音を発するためには、 運動神経自体の生理学的変化が必要であると考えられる。この結果はステロイドホルモンによる神経細胞の機能的修飾がどのように行動の変化に結びつくかを解明した数少ない実験例であるといえる。
今後の課題	次の課題として発声中のカエルのDTAMから細胞外記録を取る事を計画している。この実験ではDTAMに細胞外記録電極を慢性的に埋め込み、カエルが音声を発したときのDTAMの神経活動を記録することが目的である。この手法は既にラットや鳥類で確立されている。この記録法に成功すれば、雄、雌、そしてテストステロンを投与した雌を用いてDTAMの神経活動にどのような性差があり、それがどのようにステロイドによって変化するかが明らかにされると考えられる。





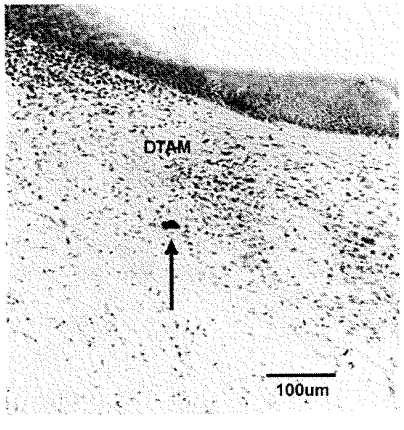


図1. 上:DTAM からの神経細胞外記録。DTAM の1シナプス下流にある喉頭運動核を刺激し DTAM からの神経反応を記録した。
DTAM は小さい神経核であるため局所的にのみ記録がとれる。
下:上の細胞外記録のとれた場所をアルシアンブルーでレーベルした組織。

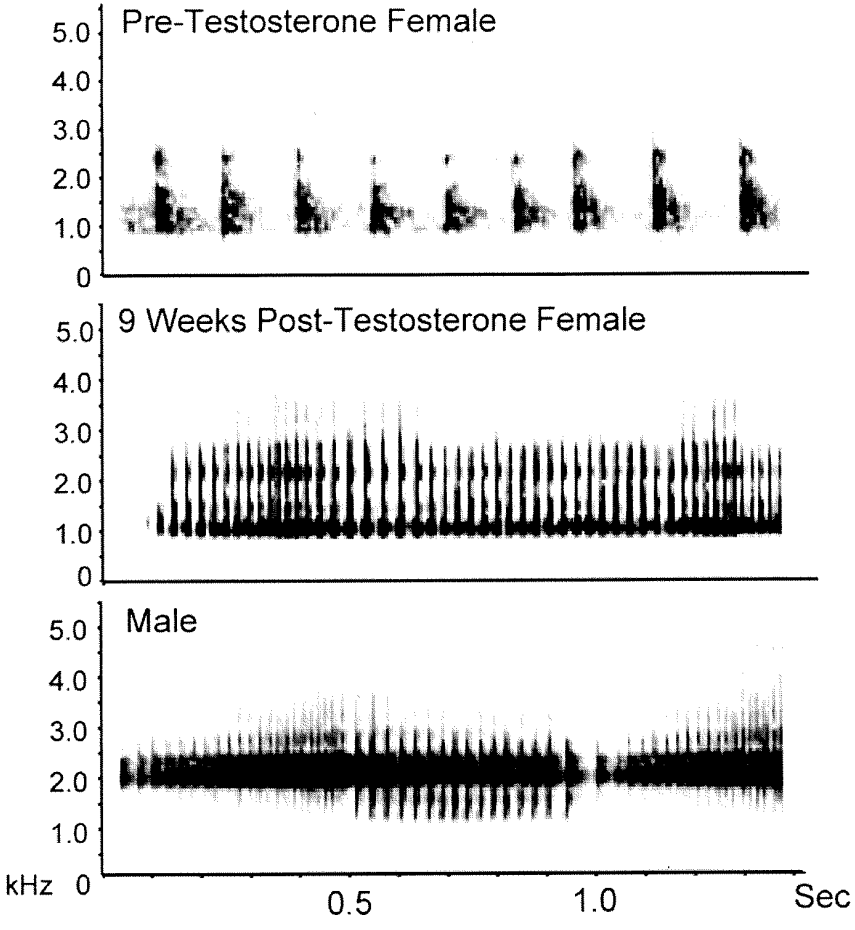


図2. カエルの音声のサウンドスペクトグラム。テストステロン投与前のメス(上)、テストステロン投与 9 週間後(中)、オスの音声。

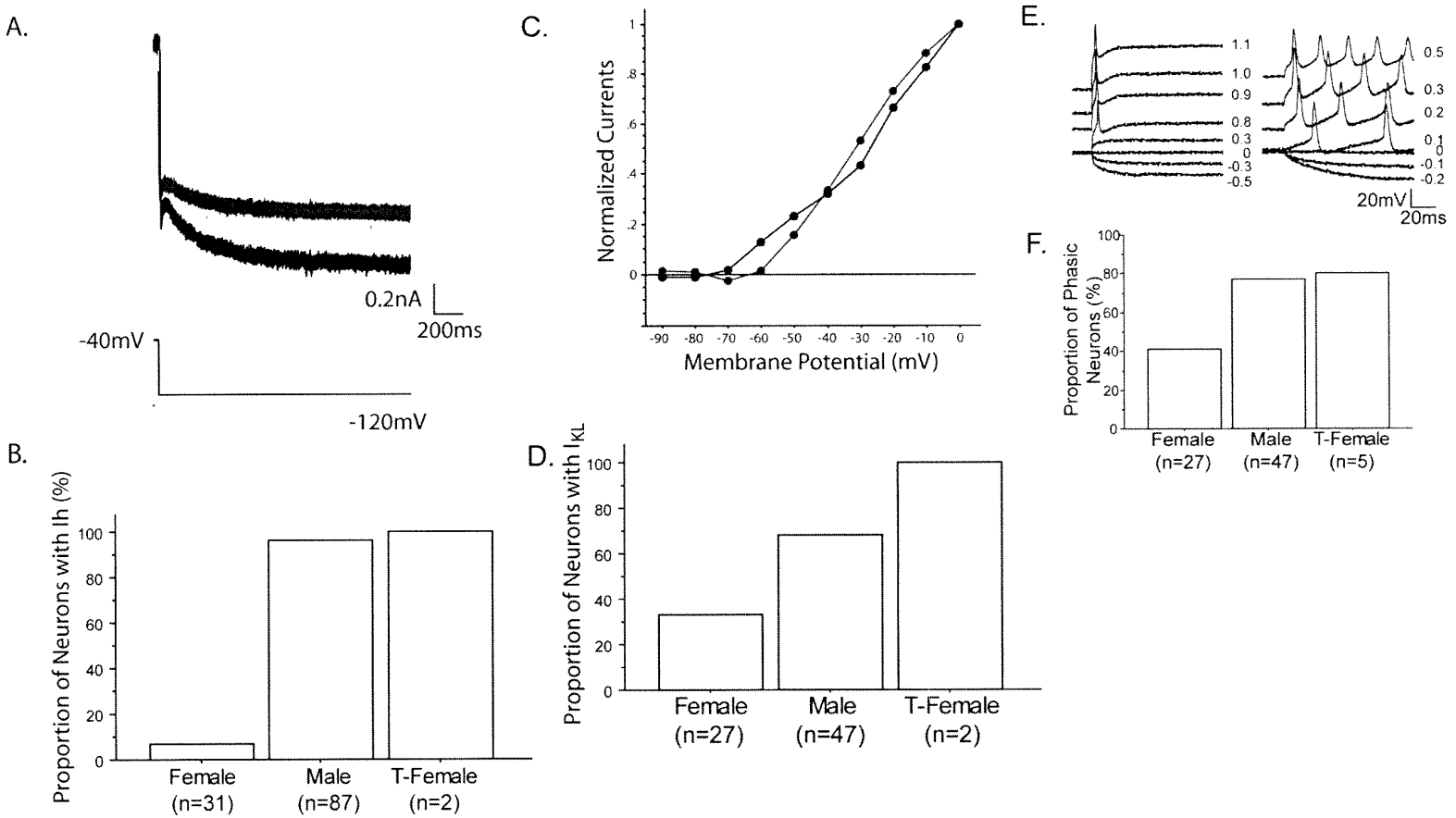


図3. 喉頭運動神経細胞のテストステロンによる雄性化。イオン電流、Ih と IKL(図 A,C)は雄の神経細胞に頻繁にみられるが、これらのイオン電流はテストステロン投与後のメスの神経細胞に発現されている(図 B,D)。また、活動電位のパターンも雄の細胞の大多数が Phasic(一過性の活動電位:図 E 左)、メスの細胞の大多数が Tonic(連続的な活動電位:図 E 右)なパターンを示すが、テストステロンを投与されたメスではほとんどが雄特有の Phasic なパターンを示す。